REALE ISTITUTO LOMBARDO DI SCIENZE E LETTERE
Estratto dai Rendiconti. — Vol. XLVI, fasc. 17.º – Adunanza del 13 nov. 1913.

L'isotossicità del sangue

Nota riassuntiva

per il dott. ALDO PERRONCITO

375

PAVIA
PREMIATA TIPOGRAFIA SUCCESSORI FUSI
LARGO DI VIA ROMA 7.
1913.

L'ISOTOSSICITÀ DEL SANGUE

Nota riassuntiva

per il dott. Aldo Perroncito

(*Adunanza del 13 novembre 1913*)

Quattro anni or sono mi occorreva di osservare il fatto che il sangue degli animali trattati con siero d'anguilla è fortemente tossico per gli animali normali della stessa specie. In quella stessa mia prima nota io rilevavo come invece l'inoculazione intravenosa di sangue di animali sani è assolutamente inoffensiva anche in dosi venti volte maggiori; che inoltre talune malattie possono dar luogo alla tossicità del sangue.

Da allora l'argomento è stato oggetto di studio per parte di molti osservatori e la questione si è andata complicando progressivamente senza che si sia proceduto effettivamente oltre nella conoscenza del fenomeno.

Quasi contemporaneamente alla pubblicazione della mia nota, e indipendentemente da me, von Dungern osservava la tossicità per gli animali nuovi della stessa specie del sangue defibrinato dei conigli trattati con emulsione di testicoli di bue. Tale tossicità però era inferiore a quella da me osservata e non si esercitava su tutti gli animali nuovi, ma soltanto su alcuni di essi, ed egli trovava tossico nella stessa misura anche il sangue delle femmine gravide e di un certo numero di conigli nuovi.

Poco più tardi Blaizot ottenne la tossicità dal sangue in animali anafilattici verso il siero di cavallo e stabiliva che il tossico si distrugge molto rapidamente e comunque non esiste più 45 minuti dopo la defibrinazione.

Una spiegazione del fenomeno veniva tentata da Friedberger e dalla sua Scuola; essi legavano il fatto con quello

della tossicità primitiva degli antisieri su animali di specie diverse e colla questione dell'anafilassi riferendo la tossicità alla formazione di anafilatossina e alla lunga permanenza dell'antigeno nel corpo dell'animale trattato.

La questione appare completamente spostata, da una parte per opera della Scuola di Doerr e specialmente di Moldovan, dall'altra per opera di Briot, Jammes, Staub e dello stesso Blaizot.

Moldovan infatti affermava che il tossico si trova nel sangue defibrinato degli animali anche normali, che esso si mette normalmente in libertà colla defibrinazione del sangue; la tossicità dunque non sarebbe altro che un episodio della coagulazione del sangue e si esplicherebbe precisamente coagulando il sangue nelle vene e nel cuore destro dell'animale a cui viene iniettato. Tali conclusioni Doerr non si è peritato di portar senza altro come definitive nella nuova edizione del trattato di Kolle e Wassermann.

Successivamente gli autori francesi citati accedevano alle stesse idee e venivano alla conclusione che la tossicità è un fenomeno fuggevole legato alla coagulazione; soltanto Blaizot nota riservatamente di avere l'impressione che la tossicità degli animali trattati sia diversa da quella dei normali.

Gli autori francesi però negano l'esistenza di coaguli nel cuore destro e nelle vene degli animali uccisi con iniezioni di sangue tossico.

Dagli autori francesi citati e da una serie di altri osservatori il fenomeno viene messo in rapporto con la tossicità degli estratti d'organi, con quella degli antisieri e in generale coi veleni anafilattici.

Recentemente infine da alcuni autori sono stati messi in luce fatti che potrebbero essere in rapporto con quelli da me osservati e ne estendono il valore. Così Valenti ha osservato che il siero degli animali trattati con morfina, nei periodi di riposo dal trattamento, è tossico per gli animali normali.

Dopo la pubblicazione della mia nota io ho condotto fino ad oggi nuove ricerche che è mia intenzione di riassumere qui brevemente riservandomi una più ampia trattazione.

Devo subito dichiarare che le mie ricerche confermano in

ogni loro parte le mie prime osservazioni e mi hanno condotto a dilucidare alcuni punti della questione che giudico di un certo interesse.

Io mi sono dapprima preoccupato di precisare quali fossero le condizioni migliori nelle quali il fenomeno si presenta; ottenni i migliori risultati inoculando gli animali per tre volte ad una settimana di distanza di c. c. 0,003 a 0,005 di siero d'anguilla per chilogramma di animale; e salassandoli verso il 50° giorno dall'ultima iniezione. Su 43 conigli così trattati io ottenni nettamente il fenomeno in 32; soltanto due serie, una di 5 conigli e l'altra di 6, non presentarono il sangue tossico, fatto probabilmente da imputarsi all'antigeno.

Sulle cavie il fenomeno stesso è assai meno costante e la tossicità del sangue a piccole dosi si ottiene soltanto raramente.

Del sangue dei 32 conigli di cui ottenni la tossicità col metodo descritto (in tempo utile perchè non avvenisse l'alterazione del tossico o conservando il tossico stesso con speciali modalità che descriverò in seguito) ho inoculato 98 conigli nuovi i quali *tutti* a seconda della dose usata, (1-5 c. c. per chilogramma di animale) e della tossicità del sangue, di solito altissima, morirono rapidamente o presentarono fenomeni gravi di intossicazione.

Non soltanto nelle condizioni descritte però si può trovare tossico il sangue defibrinato in seguito a trattamento con siero d'anguilla; ma spesso si può osservare il fenomeno nei conigli e più raramente nelle cavie anche dopo una sola iniezione di siero d'anguilla.

Oltrechè col siero d'anguilla io sono riuscito a provocare la tossicità mediante l'inoculazione di albumina d'uovo in forti dosi (tre iniezioni di 5 c. c. in peritoneo) ed ho osservato lo stesso fatto in conigli guariti da una infezione sperimentale di sifilide e spesso in conigli affetti da coccidiosi (più specialmente in quelli in via di guarigione).

Si presenta qui la questione se il sangue di conigli perfettamente normali possa essere tossico, come hanno affermato all'infuori di me, tutti gli autori che si sono occupati della questione.

Per mio conto su ventinove conigli riscontrati all'autopsia perfettamente sani, e del cui sangue fu inoculato nelle vene di

conigli nuovi una quantità variabile fra 5 e 35 c. c. per chilogramma di animale, non riscontrai mai il fenomeno della isotossicità su conigli sani, cinque volte invece ebbi fenomeni tossici su conigli nuovi affetti da coccidiosi mentre il sangue stesso era inoffensivo per conigli sani.

É ben vero che questi fatti sembrano stare contro le affermazioni di quasi tutti gli autori che si sono occupati della questione; ma mentre da un lato nessuno degli autori stessi parla del risultato delle autopsie degli animali adoperati per siffatte ricerche e nemmeno di animali sani, ma soltanto di animali nuovi, d'altro lato le mie ricerche hanno stabilito che la tossicità si trova frequentemente nel sangue di conigli affetti da coccidiosi, malattia che come ognuno sa è diffusissima, e sopratutto di quelli in via di guarigione.

Si pensi a questo proposito p. e. che chiunque avesse praticato l'autopsia dei miei conigli inoculati di spirochete della sifilide quando io ho sperimentato la tossicità del loro sangue poco meno che due mesi dopo la guarigione completa delle ulcere, senza conoscere i precedenti, avrebbe potuto senz'altro credere che si trattasse di conigli perfettamente normali.

Un'altra questione pure dibattuta che si presenta d'altronde subito alla mente dell'osservatore è quello dei rapporti della tossicità del sangue con lo stato anafilattico dell'animale trattato, poichè il trattamento a cui si sottomettono gli animali per ottenere l'isotossicità è molto simile a quello usato per produrre l'anafilassi.

Per stabilire se esistesse un rapporto fra i due fenomeni, io ho inoculato tre serie ciascuna di 12 cavie di 1/10 di c. c. di siero di cavallo e dopo 18-20 giorni ho inoculato nella giugulare di due per ciascuna serie 1 c. c. dal siero stesso; osservata la morte di queste coi classici sintomi dell'anifilassi, le altre cavie venivano dissanguate e il loro sangue defibrinato inoculato nella giugulare di cavie nuove. Sperimentando a questo modo mai ebbi fenomeni tossici fino all'inoculazione di 6 c. c. per Kg. di animale; a dosi maggiori (10 c. c. e più) ebbi manifestazioni patologiche anche abbastanza gravi, ma soltanto in due casi la morte dopo 70′ e 85′ dall'iniezione.

A dosi così alte, però, nelle cavie si possono avere disturbi anche in seguito a iniezioni di sangue defibrinato di cavie sane e normali; sembra però che si tratti più che altro di turbe meccaniche nella circolazione del sangue.

Anche nelle esperienze sui conigli comunque non potei mai stabilire un rapporto tra l'isotossicità è l'anafilassi.

A questo punto si impongono altre questioni circa la natura e la localizzazione del veleno.

La prima questione che si presenta è se il tossico si trova nel sangue circolante o se vi si mette in libertà con la defibrinazione e in quale elemento costitutivo del sangue esso si trova localizzato.

Per risolvere il primo di questi problemi io ho trattato alla stessa maniera contemporaneamente una serie di animali e riscontrata positiva in uno della serie la tossicità del sangue, raccoglievo direttamente dalla carotide mediante una siringa di vetro 5 a 10 c. c. di sangue che iniettavo immediatamente nella vena dell'orecchio di un coniglio nuovo del peso di 500 a 1000 grammi per modo da introdurre circa 10 gr. di sangue per chilogramma di animale: raccoglievo quindi e defibrinavo il sangue dell'animale stesso salassato, saggiandone la tossicità sugli animali nuovi. Sperimentando in tal modo potei stabilire come il sangue completo di conigli, il cui sangue defibrinato ha un altissimo potere tossico è innocuo affatto pei conigli nuovi, nei quali in nessun caso ebbi fenomeni di intossicazione; lo stesso risultato ottenni raccogliendo il sangue in soluzione di citrato di soda e inoculandolo così mescolato.

Riguardo alla presenza del tossico nel siero e negli elementi figurati del sangue separando l' uno dagli altri mediante centrifugazione e lavatura, potei stabilire come il siero presenta le stesse proprietà del sangue defibrinato. Anche gli elementi figurati però diluiti in soluzione di cloruro sodico spesso si mostrarono tossici fino a produrre (in un caso) la morte.

Passando a considerare la natura del veleno si presentano essenzialmente i seguenti problemi:

Si tratta sempre dello stesso veleno qualunque sia l' antigeno o di veleni diversi?

Il veleno è, come si crede generalmente oggi, legato ad un momento determinato e rapidamente oltrepassato della coagulazione del sangue?

Il tossico è della stessa natura di quelli degli estratti d'organi a cui fu paragonato?

Riguardo alla prima questione molto difficile a definirsi, perchè i mezzi per analizzare l' azione di questi veleni sono fino ad oggi estremamente scarsi e del tutto empirici, devo tuttavia osservare come per esempio fra il tossico del sangue di conigli trattati con siero d'anguilla e quello del sangue di co-

nigli trattati con albume d'uovo vi è una netta differenza. Mentre i conigli iniettati del primo invero presentano fatti prevalentemente di paralisi e soltanto da ultimo poche contrazioni dei muscoli della nuca, i conigli iniettati del secondo presentano un lungo periodo di convulsioni caratterizzate da contrazioni cloniche dei muscoli spinali.

Ancora, per esempio, esiste certamente una differenza fra il tossico che si trova nel sangue dei conigli coccidiosi e il veleno che si trova nel sangue di quelli trattati con siero d'anguilla. Mentre infatti il sangue dei conigli coccidiosi è tossico soltanto per alcuni dei conigli nuovi, quest'ultimo è tossico per tutti i conigli nuovi.

Riguardo alla seconda questione le ricerche di Blaizot hanno provato che dopo 45 minuti dal salasso, il sangue defibrinato tossico diviene innocuo e questo fatto, secondo esperienze molto geniali, sarebbe legato ad un episodio della coagulazione del sangue. Da questo punto di vista tuttavia le mie ricerche hanno stabilito che perchè il tossico venga a scomparire in 45 minuti o un'ora, occorre la presenza della luce e sopratutto dell'aria.

Senza che io abbia esteso più oltre l'osservazione, defibrinando in bottiglia completamente riempita di sangue e perfettamente chiusa e conservando al buio, io ho trovato la tossicità conservata nella stessa misura fino a sei ore dopo la defibrinazione.

Infine riguardo alla terza questione credo di poter mettere in linea fatti che stanno nettamente contro una identità di natura fra i veleni di estratti d'organi e il veleno del sangue isotossico.

A parte la questione dei sintomi su cui non si può seriamente appoggiare un giudizio, si possono trovare tre nette differenze tra i due tossici che non possono non essere considerate e cioè:

Il fatto che gli estratti d'organi sono tossici anche se provengono da individui perfettamente normali.

La meno rapida alterabilità del veleno degli estratti d'organi in confronto di quello del sangue defibrinato degli animali isotossici.

La possibilità di immunizzare gli animali contro il veleno degli estratti d'organi mediante iniezioni di piccole dosi rapidamente subentranti e la impossibilità di ottenere l'immunizione

stessa mediante i veleni che si trovano nel sangue tossico e che conducono a morte l'animale in cui l'iniezione viene praticata non appena si giunga alla dose mortale.

Quest'ultimo è un argomento di grande valore anche di fronte alla tesi che il tossico possa essere anafilatossina.

Da ultimo devo illustrare un fatto di molto difficile spiegazione, il quale però viene ancora una volta a provare che l'isotossicità non è un fenomeno normale legato alla coagulazione del sangue.

Io ho potuto notare che la tossicità del sangue, di qualunque natura essa sia, diminuisce rapidamente dopo un salasso anche di pochi c. c. e scompare due o tre giorni dopo.

Io ho potuto stabilire questo fatto salassando alcuni conigli di una serie trattata con siero d'anguilla, stabilendone la tossicità e ripetendo la prova 2, 4, 10, e più giorni dopo; in queste condizioni mentre gli altri animali della serie presentavano un sangue fortemente tossico, quello degli individui salassati era assolutamente innocuo per conigli nuovi. La stessa avviene in genere per tutti conigli che presentano la tossicità del sangue.

Dati tutti questi fatti che ho rapidamente riassunto io credo di poter venire alle conclusioni seguenti:

Il fenomeno dell'isotossicità del sangue si determina inseguito all'introduzione nell'organismo di albumine eterogene e probabilmente si tratta di un fenomeno generale che si produce anche in seguito all'introduzione di sostanze diverse.

Non può affermarsi che il fenomeno, sia pure eccezionalmente, si presenti in animali perfettamente normali.

Talune malattie danno luogo al fenomeno dell'isotossicità. L'isotossicità non ha alcun rapporto dimostrato con l'anafilassi.

Il tossico non esiste nel sangue circolante, esso è soltanto l'esponente di un'alterazione del mezzo organico che si mette in evidenza colla defibrinazione del sangue.

Il tossico è localizzato più specialmente nel siero, per quanto non possa negarsi in genere una partecipazione degli elementi figurati del sangue.

Il veleno probabilmente non è sempre lo stesso poichè i sintomi sono diversi a seconda dell'antigeno usato.

Il tossico esposto all'aria, si distrugge rapidamente, ma difeso dall'aria e dalla luce non si altera per un tempo abbastanza lungo.

La caratteristica immunizzazione a piccole dosi subentranti nota pel veleno anafilattico, non si ha per il sangue defibrinato isotossico.

Per questo e per altri caratteri esso differisce da parecchi dei veleni a cui fu paragonato.